

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологий

Базовая кафедра медико–биологических систем и комплексов

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ А. Н. Шуваев

подпись инициалы, фамилия

« _____ » _____ 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Квантово – химическая модель L - ^{18}F - изолецина в качестве ПЭТ РФП для
диагностики миеломной болезни

тема

03.04.02 Физика

код и наименование направления

03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной медицины и
медицинского оборудования

код и наименование магистерской программы

Научный руководитель

подпись, дата

к. ф.-м. н., доцент

должность, ученая степень

А. Н. Шуваев

инициалы, фамилия

Выпускник

подпись, дата

Е. С. Лысенкова

инициалы, фамилия

Рецензент

подпись, дата

к. х. н., доцент

должность, ученая степень

А. А. Шубин

инициалы, фамилия

Красноярск 2018

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Квантово–химическая модель L– ^{18}F –изолейцина в качестве ПЭТ РФП для диагностики миеломной болезни» содержит 51 страницу текстового документа, 9 рисунков, 6 таблиц, 3 схемы химических реакций, ссылки на 51 литературный источник.

МОДЕЛИРОВАНИЕ, СТРУКТУРА, СИЛОВЫЕ ПОЛЯ AMBER, ПЭТ, РФП, АМИНОКИСЛОТЫ, ИЗОЛЕЙЦИН, КИНЕТИКА МЕТКИ, ПРЕКУРСОР

Цель работы – создание квантовохимической модели L – ^{18}F изолейцина для ПЭТ – визуализации миеломной болезни.

В результате работы рассчитаны основные квантовохимические параметры молекул L – ^{18}F – изолейцина и L – изолейцина, рассчитано влияние радиоактивного атома ^{18}F в изолейцине на энергию формирования пептидных связей между аминокислотами и L – ^{18}F – изолейцином в сравнении с L – изолейцином. Рассчитанное отношение проницаемости L – ^{18}F – изолейцина к L – изолейцину составило 0.973, соответственно, изолейцин, меченный атомом ^{18}F , хуже проникает через плазматическую мембрану. Вычислена дозовая нагрузка на основе модели кинетики метки изолейцина, предложена схема синтеза прекурсора с последующим фторированием и получением РФП с удовлетворительным выходом.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
1 Литературная часть.....	7
1.1 Множественная миелома.....	7
1.2 Пути транспорта в миеломной клетке.....	11
1.2.1 Рецепторы клеточной адгезии.....	11
1.2.2 Транспорт холина.....	12
1.2.3 Транспорт монокарбоксилатов.....	13
1.2.4 Транспорт глюкозы.....	13
1.2.5 Транспорт аминокислот.....	14
1.3 Способы диагностики миеломной болезни.....	15
1.3.1 Радиофармацевтические препараты.....	16
1.3.2 ПЭТ-изображения для визуализации миеломной болезни	17
1.3.3 ПЭТ-визуализация с [^{18}F] – ФДГ.....	18
1.3.4 ПЭТ-визуализация с интегриновыми рецепторами.....	18
1.3.5 ПЭТ-визуализация с радиоактивным аналогом холина.....	19
1.3.6 ПЭТ-визуализация с [^{11}C]-ацетатом.....	20
1.3.7 ПЭТ-визуализация с радиоактивно мечеными аминокислотами.....	20
1.4 Эффективность диагностики множественной миеломы.....	21
2 Расчетная часть.....	23
2.1 Моделирование [^{18}F] – изолейцина.....	23
2.1.1 Объект исследования.....	23
2.1.2 Инструмент исследования	23
2.1.3 Оптимизация геометрии [^{18}F] – изолейцина.....	24
2.1.4 Основные квантовохимические параметры [^{18}F] – изолейцина.....	26
2.2 Условия подобия лекарству.....	29
2.3 Проницаемость через клеточную мембрану.....	30
2.4 Образование пептидных связей.....	32
2.5 Модель кинетики L – [^{18}F] изолейцина через мембрану.....	37

2.6 Схема синтеза прекурсора.....	41
Выводы.....	45
Список литературы.....	47

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома – второе по распространенности гематологическое возрастное злокачественное заболевание. Множественной миеломе предшествуют доброкачественные образования: моноклональная гаммапатия неясного значения (MGUS) (прогрессирование 1-3% в год) и тлеющая миелома (прогрессирование 10% в год) [1]. Множественная миелома представляет собой злокачественную опухоль, образованную из плазматических клеток и локализованную, как правило, в плоских костях.

Наиболее широко используемый препарат в диагностике множественной миеломы – ^{18}F -ФДГ, однако около трети случаев вообще не определяются с помощью ^{18}F -ФДГ. При первичных новообразованиях в костях накопление ^{18}F -ФДГ не будет критерием оценки доброкачественности и злокачественности процесса; накопление ^{18}F -ФДГ не отражает агрессивность первичных метастаз.

В настоящее время существует потребность в диагностических средствах визуализации, специфичных для миеломы. Исследование [2] показало зависимость роста и пролиферации миеломных клеток от поглощения изолейцина. В связи с этим я предполагаю, что радиоактивный аналог изолейцина будет эффективно накапливаться в раковой опухоли и даст возможность визуализировать процесс канцерогенеза. Целью данной работы является создание квантовохимической модели L – [^{18}F] изолейцина для ПЭТ – визуализации миеломной болезни.

Для достижения поставленной цели были поставлены следующие задачи:

- Рассчитать основные квантовохимические параметры молекулы;
- Рассчитать влияние атома [^{18}F] в изолейцине на энергию формирования пептидных связей между аминокислотами и L – [^{18}F] изолейцином в сравнении с L – изолейцином;
- Рассчитать отношение проницаемости L – изолейцина и L – [^{18}F] изолейцина;

- Вычислить дозовую нагрузку на основе модели кинетики метки изолейцина;
- Предложить схему синтеза прекурсора для последующего фторирования с получением РФП.

Глава 1 ЛИТЕРАТУРНАЯ ЧАСТЬ

1.1 Множественная миелома

Множественная миелома – второе по распространенности возрастное гематологическое злокачественное заболевание и неизлечима у подавляющего большинства пациентов. Множественная миелома – это злокачественная опухоль клеток красного костного мозга, чья ДНК претерпела характерную рекуррентную коммутацию классов и соматическую гипермутацию.

Множественная миелома заставляет раковые клетки накапливаться в костном мозге, где они вытесняют здоровые клетки крови. Вместо того чтобы вырабатывать полезные антитела, раковые клетки продуцируют аномальные белки, которые могут вызывать осложнения. Парапротеины, вырабатываемые миеломной клеткой, были достаточно хорошо изучены [41]. Карбоксильные концевые группы легких цепей паталогического иммуноглобулина представляют собой константные участки М-белка, делятся на два типа: каппа и лямбда. Эти типы во многом сходны между собой, но различаются в аминокислотной последовательности. С другой стороны, концевые участки М-белка со стороны аминокислотной группы вариативны и уникальны для каждого белка и имеют последовательность из 108 — 120 аминокислот. Согласно [41] в аминотерминальных последовательностях всегда встречается изолейцин.

Клинические проявления множественной миеломы различаются в зависимости от типа болезни. Симптоматическая миелома включает следующие диагностические критерии:

- Клональные плазматические клетки в костном мозге превышают 10% или обнаружены в любом количестве в биоптате других тканей;
- Обнаружение парапротеина в сыворотке и/или в моче;
- Гиперкальциемия (содержание кальция крови превышает 2,75 ммоль/л);
- Почечная недостаточность;

- Анемия (содержание гемоглобина в крови менее 100 г/л);
- Костные поражения (литические повреждения или остеопороз с компрессионными переломами).

Для бессимптомной (тлеющей) миеломы характерны следующие диагностические симптомы, частично повторяющие критерии симптоматической миеломы:

- М – белок сыворотки превышает 30 г/л;
- Плазматические (клональные) клетки в пунктате костного мозга превышают 10%;
- Нет органных поражений, связанных с миеломой.

Для предшественника множественной миеломы, моноклональной гаммапатии неясного генеза / неопределенного значения (MGUS), характерна следующая клиническая картина:

- Парапρωтеин (М – белок) сыворотки не превышает 30 г/л;
- Плазматические (клональные) клетки в пунктате костного мозга не превышают 10 %;
- Нет органных поражений, связанных с миеломой [3, 4].

Признаки и симптомы множественной миеломы могут варьироваться, и в начале болезни их может не быть.

Миеломной болезни предшествует предраковая стадия, называемая моноклональной гаммопатией неопределенного значения (MGUS) с 0,5-1% заболеваемости множественной миеломой. Тлеющая множественная миелома (SMM) представляет собой промежуточный клинический этап, в котором риск заболеваемости множественной миеломой составляет 10% в год [1].

Механизмы, с помощью которых предраковая миелома (MGUS и SMM) прогрессирует до множественной миеломы, сложны и неизвестны. Злокачественные плазматические клетки миеломы накапливаются в костном мозге и вызывают нарушение гомеостаза кости, приводящее к разрушению костной ткани и разрушению костного мозга. Миеломные клетки продолжают

продуцировать антитела, как и здоровые клетки плазмы, но клетки миеломы продуцируют аномальные антитела (моноклональные белки или М-белки), которые накапливаются в организме и вызывают такие проблемы, как повреждение почек. Раковые клетки также могут вызывать повреждение костей, что увеличивает риск их разрушения.

В Соединенных Штатах около 3 процентов людей старше 50 лет имеют MGUS. Каждый год у 1% людей с установленным диагнозом MGUS развивается множественная миелома или родственный рак.

MGUS, как и множественная миелома, отмечена наличием в крови М-белков, продуцируемых аномальными плазматическими клетками. Однако при MGUS уровень М-белков значительно ниже и никакого повреждения организма не происходит.

Факторы, которые могут увеличить риск развития множественной миеломы, включают:

- Возраст. Риск развития множественной миеломы увеличивается с возрастом, причем большинство людей диагностировано около 60 лет, средний возраст больных миеломной болезнью – 69 лет.

- Мужской пол. Миеломная болезнь чаще развивается у мужчин, чем у женщин. В США на 100 000 населения болезнь обнаружена у 14.2 мужчин и 9.7 женщин.

- Негроидная раса. У представителей негроидной расы множественную миелому диагностируют примерно в два раза чаще. На 100 000 населения США 9.9 случаев множественной миеломы у представителей афроамериканцев – мужчин (6.7 у женщин) и 4.3 случая постановки диагноза у представителей белой расы (3.0 у женщин).

- Наследственность. Если в семье были случаи заболевания множественной миеломой, то риск приобретения генерализованной плазмоцитомы повышен.

- Диагностированная моноклональная гаммопатия неопределенного значения (MGUS). Ежегодно у 1% людей с MGUS развивается множественная миелома.

Осложнения множественной миеломы включают:

- Частые инфекции. Миеломные клетки препятствуют способности организма бороться с инфекциями, продуцируя патологические антитела, неспособные выполнять функцию лейкоцитов.

- Проблемы с костями. Множественная миелома может также влиять на костную ткань, что приводит к боли в костях, их истончению и патологическим переломам.

- Почечная недостаточность. Множественная миелома может вызывать проблемы с функцией почек, включая почечную недостаточность. Более высокий уровень кальция в крови, связанный с эрозией костей, может помешать способности почек фильтровать отходы крови. Белки, продуцируемые клетками миеломы, могут вызывать подобные проблемы.

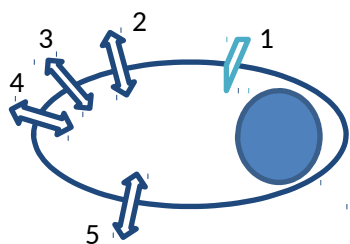
- Низкое количество эритроцитов (анемия). Миеломные клетки вытесняют нормальные клетки крови, что способствует развитию различных заболеваний крови, в том числе, множественная миелома способна вызвать анемию.

- Амилоидоз. При развитии этого осложнения поражаются богатые коллагеном органы и ткани: сухожилия, суставы, сосуды, сердце, язык, дерма, нервы.

- Неврологическая симптоматика. Это осложнение может возникнуть из-за сдавливания спинного мозга фрагментами тела разрушенного в результате истончения костей позвонка или экстрадурально расположенной опухолью.

1.2 Пути транспорта в миеломной клетке

Наиболее широко используемый препарат в диагностике ММ – ^{18}F -ФДГ, однако около трети случаев вообще не определяются с помощью ^{18}F -ФДГ. При первичных новообразованиях в костях накопление ^{18}F -ФДГ не будет критерием оценки доброкачественности и злокачественности процесса; накопление ^{18}F -ФДГ не отражает агрессивность первичных метастаз.



- 1 – рецепторы клеточной адгезии VLA-4;
- 2 – транспортёр аминокислот (АК) L-типа (LAT1);
- 3 – транспортёр холина;
- 4 – транспортёр монокарбоксилатов;
- 5 – транспортёр глюкозы.

Рисунок 1 – пути транспорта миеломной клетки

В связи с этим авторы [1] исследовали возможные пути транспорта в мутировавшую плазматическую клетку (рис. 1) и, как следствие, возможные способы диагностики.

1.2.1 Рецепторы клеточной адгезии

Интегрин VLA-4 экспрессируется на клеточных поверхностях стволовых клеток, прекурсорах Т- и В-клеток, моноцитов, эозинофилов и нейтрофилов. Основная функция этого интегрина заключается в том, чтобы способствовать иммунному ответу на воспаление, перемещая лейкоциты в пораженную ткань.

VLA-4 не связывается с соответствующими лигандами до активации лейкоцита хемотаксическими агентами или другими раздражителями (часто продуцируемыми эндотелием или другими клетками в месте повреждения). Первичные лиганды VLA-4 включают VCAM-1 и фибронектин. Один активирующий хемокин представляет собой SDF-1. После связывания SDF-1 интегрин подвергается конформационному изменению альфа- и бета-доменов,

что необходимо для обеспечения высокой аффинности связывания для молекул адгезии эндотелия.

Экспрессия VLA-4 в плазматической мембране регулируется различными факторами роста или хемокинами в зависимости от типа клетки. В Т-клетках IL-4 уменьшает экспрессию VLA-4. В CD34-положительных клетках IL-3 и SCF вызывают повышение регуляции, а G-CSF вызывает снижение регуляции (стволовые клетки являются CD34-положительными клетками) [3].

1.2.2 Транспорт холина

Холин является важным питательным веществом для всех клеток, поскольку он играет роль в синтезе мембранных фосфолипидных компонентов клеточных мембран, а также в синтезе нейромедиатора ацетилхолина. Недостаток холина влияет на экспрессию генов, участвующих в клеточной пролиферации, дифференцировке и апоптозе, и он связан с дисфункцией печени и раком. Аномальный перенос холина и обмен веществ связаны с рядом нейродегенеративных расстройств, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона. Кинетические исследования с мечеными радиоактивным изотопом холином и ингибиторами различают три системы переноса холина:

- облегченная диффузия с низкой аффинностью;
- высокое сродство, Na^+ – зависимый транспорт;
- промежуточное сродство, Na^+ – независимый транспорт.

Однако в последнее время они включают полиспецифические органические катионные транспортеры (ОКТ) с низким сродством к холину, высокоаффинные переносчики холина (CHT1s) и промежуточно-сродственные холин-транспортотипы (CTL1). Системы мембранного транспорта холина с высокой и промежуточной аффинностью (CHT1s и CTL1) селективно ингибируются гемихолинием-3 и, по существу, демонстрируют характеристики специализированных транспортеров для целевого метаболизма холина. CHT1 обилен в нейронах и почти исключительно поставляет холин для синтеза

ацетилхолина. Основное внимание уделяется вновь открывшимся транспортерам холина CTL1. Они экспрессируются в разных организмах и типах клеток, по-видимому, не для биосинтеза ацетилхолина, а для получения наиболее распространенного метаболита холина, мембранного липида фосфатидилхолина [4].

1.2.3 Транспорт монокарбоксилатов

Ацетат переносится в клетки членами семейства монокарбоксилатных транспортеров, где ацетил-СоА-синтетазы (ACSS) катализируют превращение в ацетил-СоА. Клетки млекопитающих способны экспрессировать митохондриальные и цитозольные формы ACSS. В работе [5] авторы приводят данные о том, что фермент ACSS может быть важным для роста и пролиферации некоторых видов раковых клеток. Так же известно [6], что ацетат маркирует ацетил-СоА только в гипоксических клетках

1.2.4 Транспорт глюкозы

Контрастер или нейтрализатор Na^+ -глюкозы экспрессируется специализированными эпителиальными клетками тонкого кишечника и проксимальной каналькой почки и опосредует активный Na^+ – связанный транспортный процесс с электрохимическим градиентом. Он активно переносит глюкозу из просвета кишечника или нефрона против его градиента концентрации путем сочетания поглощения глюкозы с поглощением Na^+ , который переносится вниз по его градиенту концентрации. Градиент Na^+ поддерживается активным переносом Na^+ через противоопухолевую поверхность щеточных пограничных клеток с помощью мембранной связанной $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATФазы}$.

Второй класс носителей глюкозы – это облегчающие переносчики глюкозы (GLUT), из которых 14 белков закодировано в геноме человека. Эти

белки опосредуют двунаправленный и энергонезависимый процесс переноса глюкозы в большинстве тканей и клеток, где глюкоза транспортируется по ее градиенту концентрации путем облегчающей диффузии [7].

GLUT1 представляет собой трансмембранный белок, ответственный за облегченную диффузию глюкозы через мембрану. Этот белок не может перемещать глюкозу из области с низкой концентрацией глюкозы в область с высокой концентрацией глюкозы, это возможно только при активном транспорте. GLUT1 чрезвычайно распространен в мембране эритроцитов млекопитающих, где он может быстро уравнивать уровень глюкозы между цитоплазмой эритроцита и плазмой крови. Кроме глюкозы GLUT1 также может транспортировать маннозу, галактозу и глюкозамин. Экспрессия GLUT1 часто усиливается при опухолеобразовании.

Многие биохимические исследования [8–10] показали, что GLUT1 функционирует путем поочередного воздействия на сайт связывания глюкозы, сначала на одной стороне мембраны, а затем на другой стороне мембраны. Хотя это не единственный механизм, для которого существуют биохимические данные, этот механизм, возможно, является самым простым, что согласуется с данными о пассивной, облегченной диффузии глюкозы через мембрану. Как будет видно, это не связано с вращением белка в мембране, а скорее с внутренним конформационным изменением белка, которое изменяет экспозицию сайта связывания глюкозы с одной стороны мембраны на другую [11].

1.2.5 Транспорт аминокислот

Аминокислотные транспортные системы функционально характеризуются сродством к определенным аминокислотам, зависимости от натрия и чувствительностью к ингибиторам. На основе функциональных характеристик можно дифференцировать 13 основных систем переноса аминокислот. К ним относятся натриево-зависимые системы A, ASC, N, Gly, B⁰,

B , $B^{0,+}$, X_{AG}^- и β и не зависящие от натрия системы L , y^+ , $b^{0,+}$ и x_c^- . Урегулирование переноса аминокислот A и L наблюдалось во многих линиях раковых клеток [12].

Существует 3 известных белка, опосредующих перенос аминокислот типа A : SNAT1, SNAT2 и SNAT4 (SNAT: переносчик аминокислот с натриевой связью). Эти белки являются членами семейства генов SLC38 (solous carrier 38). Так как эти транспортеры были клонированы довольно недавно, детальные исследования экспрессии генов при раке отсутствуют.

Перемещение аминокислот через плазматическую мембрану происходит с помощью транспортеров аминокислот, расположенных на мембране. L -система является основным транспортером питательных веществ и аминокислот в клетку. LAT-1 переносит большие нейтральные аминокислоты, включая разветвлённые и ароматические аминокислоты [13, 14] (лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, тирозин, триптофан, метионин и гистидин) с высоким сродством и L -глутамин, L -аспарагин с низким сродством [13]. Так же является переносчиком некоторых D -аминокислот (D -фенилаланин и D -лейцин).

1.3 Способы диагностики миеломной болезни

Текущая клиническая практика визуализации множественной миеломы включает в себя первоначальную диагностическую полную скелетную рентгенографическую съемку для оценки поражения литических костей [15]. Скелетная съемка включает в себя серию рентгенограмм (простых 2D-плёнок) для покрытия всего скелета или общих анатомических областей. Несмотря на преимущество этой быстрой методики с относительно невысокой стоимостью, ключевым ограничением рентгенографической скелетной съемки является ее низкая чувствительность к ранним остеолитическим повреждениям. Типичные для множественной миеломы поражения костей могут быть обнаружены только после того, как произошло 30-50% разрушение минерализованной кости [16].

1.3.1 Радиофармацевтические препараты

Большинство радиофармацевтических препаратов (РФП) представляют собой комбинацию радиоактивного атома (радионуклида) и биологически активной молекулы (лекарственного средства), которая действует как носитель и определяет локализацию и биораспределение. Для нескольких радиоизотопов (например, радиоактивного йода, галлия и таллия) сами радиоактивные атомы определяют локализацию радиофармпрепарата в организме [40]. В настоящее время, как природные, так и синтетические молекулы могут быть помечены радиоактивными изотопами.

Клинически полезные радиофармацевтические препараты должны обладать определенными характеристиками. Радионуклиды, распадаясь, должны испускать гамма-излучение подходящей энергии (100-200 кэВ идеально подходит для гамма-камер и 511 кэВ для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ)) и достаточного количества (процент вероятности выбросов на распад) для внешнего обнаружения. Диагностические РФП не должны испускать излучения в виде частиц (альфа– или бета–излучения), что увеличивает эффективную дозу облучения пациента, но бета–излучение применяется в терапии с использованием РФП. Эффективный период полураспада должен быть достаточно длинным только для предполагаемого применения, обычно в течение нескольких часов для терапевтических РФП и от нескольких минут до двух часов – для диагностических [40].

Радионуклид не должен содержать примесей, т.е. он не должен загрязняться ни стабильными радионуклидами, ни другими радионуклидами того же элемента. Он должен обладать высокой удельной активностью, то есть радиоактивностью на единицу массы (мКи / мг). Наиболее точно соответствует приведённым характеристикам для использования в гамма-камере технеций–99m [^{99m}Tc], для ПЭТ – визуализации идеально подходит фтор–18 [^{18}F].

Радиофармацевтические препараты могут быть распределены в три основные категории, основываясь на применении в медицинской практике:

- обнаружение и оценка раковых опухолей;

- лечение злокачественных новообразований;
- оценка функции органа (и косвенно для выявления субъектов заболевания, вызывающих дисфункцию органов).

Фармакопедия, используемая в современной клинической практике, включает в себя множество различных радиофармацевтических препаратов, каждый из которых имеет диагностические и / или терапевтические свойства [39]. Молекула, связанная с радионуклидом (прекурсор), может значительно влиять на эффективность распределения радиоактивной метки.

В настоящее время низкочастотная компьютерная томография (КТ) часто используется для диагностики множественной миеломы и имеет более высокую чувствительность к рентгенограмме для скелетных областей, таких как лопатки, ребра и грудная клетка. Кроме того, КТ дает возможность обнаружить внекостные повреждения, что позволяет более точно планировать лучевую терапию по сравнению с результатами обычной рентгенографии [17]. ПЭТ и магнитно-резонансная томография (МРТ) обладают высокой чувствительностью и специфичностью для обеспечения молекулярной, функциональной и метаболической информации у пациентов с миеломной болезнью.

1.3.2 ПЭТ–изображения для диагностики миеломной болезни

Функциональная ПЭТ-диагностика широко используется для оценки медуллярных и немедуллярных заболеваний, обеспечивающих диагностические критерии, такие как максимальные стандартизированные значения поглощения (SUV_{max}), количественное определение очаговых повреждений и диффузной инфильтрации костного мозга. Метаболизм в раковых клетках изменяется по сравнению с нормальными клетками. ПЭТ-визуализация опухолевого метаболизма с использованием ^{18}F -фтордезоксиглюкозы ($[^{18}F]$ – ФДГ) широко используется для постановки диагноза, планирования лечения и мониторинга ответа на лечение. Хотя большая часть клинических метаболических ПЭТ-

изображений для диагностики миеломной болезни выполняется с $[^{18}\text{F}]$ – ФДГ, $[^{18}\text{F}]$ – ФДГ имеет значительные ограничения для миеломы. Клетки множественной миеломы являются гипопролиферативными, не повышают транскрипцию GLUT-1 и не разделяют доброкачественные и злокачественные поражения множественной миеломы. Более трети интрамедуллярных миеломных повреждений могут оставаться незамеченными при ПЭТ-визуализации с $[^{18}\text{F}]$ – ФДГ [18].

В настоящее время существует потребность в диагностических средствах визуализации, специфичных для миеломы. Новые трассировки различные молекулярные сигнатуры и, следовательно, биологические свойства миеломы, улучшат знания о прогрессировании заболевания и приведут к персонализированному управлению пациентами.

1.3.3 ПЭТ–визуализация с $[^{18}\text{F}]$ -ФДГ

Наиболее широко используемый препарат в диагностике множественной миеломы – $[^{18}\text{F}]$ –ФДГ, однако около трети случаев вообще не определяются с помощью этого трассера. При первичных новообразованиях в костях накопление $[^{18}\text{F}]$ –ФДГ не будет критерием оценки доброкачественности или злокачественности процесса. Накопление $[^{18}\text{F}]$ –ФДГ не отражает агрессивность первичных метастаз. Клетки миеломы гипо-пролиферируют, гиперэкспрессия глюко-транспортёра непоследовательна.

1.3.4 ПЭТ–визуализация с интегриновыми рецепторами

Множественная миелома восстанавливает микроокружение костей путем облегчения неоангиогенеза, рекрутирования связанных с опухолью макрофагов и активации остеокластов при одновременном ингибировании остеобластов, что вызывает неконтролируемый рост опухоли и разрушения кости. Результатом этого взаимодействия является то, что большинство пациентов с миеломной

болезнью диагностируются только после патологического перелома костей [1]. Интегрины представляют собой рецепторы гликопротеиновых клеток, которые передают сигналы в двух направлениях через плазматическую мембрану, подвергаясь конформационным изменениям в ответ на стимулы внутриклеточных и внеклеточных компонентов. Взаимодействие поверхностных интегринов опухолевых клеток со стромальной средой играет определяющую роль в патогенезе миеломы.

VLA-4, известный также как интегрин $\alpha 4\beta 1$, является очень поздним антигеном. Вырабатывается миеломной клеткой в больших количествах, способствуя клеточной адгезии к строме костного мозга, активной пролиферации клеток и выработке лекарственной устойчивости. В качестве метки используют $[^{64}\text{Cu}]\text{-CB-TE1F1P-LLP2A}$.

1.3.5 ПЭТ–визуализация с радиоактивным аналогом холина

Радиоактивно-меченый холин (в качестве метки используют как $[^{11}\text{C}]$, так и $[^{18}\text{F}]$) и его аналоги являются предшественниками биосинтеза фосфолипидов клеточной мембраны и используются в качестве метаболических ПЭТ-маркеров мембранного обмена. В исследовании [27] сообщается, что $[^{11}\text{C}]$ – холин более восприимчив к миеломным повреждениям в кости по сравнению с $[^{18}\text{F}]$ – ФДГ (37 против 22). В работе [28] сообщают о случайных результатах выявления множественной миеломы или одиночной плазмоцитомы при ПЭТ–диагностике с радиоактивно-меченым холином.

Дополнительные доклинические и клинические оценки помогут сопоставить признаки миеломы с метаболизмом холина и механизмами поглощения. Возможно, радиоактивно-меченый холин будет удачным решением проблемы диагностики миеломной болезни.

1.3.6 ПЭТ–визуализация с $[^{11}\text{C}]$ – ацетатом

Все раковые клетки, в том числе и клетки миеломы, могут метаболизировать экзогенный ацетат для биосинтеза *de novo* через синтазу жирных кислот (FAS) и использовать его в цикле трикарбоновой кислоты (цикл ТСА). FAS сверхэкспрессируется в клетках множественной миеломы и поддерживает биосинтез липидов из внеклеточного ацетата [29].

Исследование [30] показало экспрессию FAS в первичных клетках миеломы, а также в клеточных линиях. Кроме того, при фармакологическом ингибировании FAS начинается апоптоз миеломных клеток.

[¹¹C]-ацетат является перспективным клиническим ПЭТ-трассером, чувствительным к метастазам в кости, и оценивается по ракам, которые имеют ограниченное сродство с [¹⁸F]-ФДГ. При клинических исследованиях была обнаружена значительная корреляция между системной опухолевой нагрузкой, измеренной в процентах, от инфильтратов клеток плазмы костного мозга и поглощением костным мозгом [¹¹C] – ацетата ($r = + 0,63$, $p = 0,01$). При ПЭТ – визуализации с [¹¹C] – ацетатом обнаружено большее число очаговых повреждений по сравнению с ПЭТ – [¹⁸F]-ФДГ (13 против 10) [31]. Кроме того, авторы работы [31] показали, что [¹¹C] – ацетат обладает более высокой чувствительностью по сравнению с [¹⁸F]-ФДГ (84,6% против 57,7%) при обнаружении диффузной инфильтрации и очаговых поражений у пациентов с множественной миеломой.

Снижение поглощения [¹¹C] – ацетата после лечения свидетельствует о наличии системного ответа на фармакологическое воздействие.

1.3.7 ПЭТ–визуализация с радиоактивно мечеными аминокислотами

Пути транспорта аминокислот L-типа (LAT-1) были выявлены у 56% больных множественной миеломой. Количество (LAT-1)-комплексов в клетке коррелирует с пролиферацией раковых клеток. Индикатором экспрессии LAT-1 является 3,4-дигидрокси-6-18F-фенилаланин.

L-система является основным и наиболее изученным Na^+ –независимым транспортером аминокислот в клетку, в том числе с помощью этой системы транспортируется несколько незаменимых аминокислот. LAT-1 переносит большие нейтральные аминокислоты, к которым относят лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, тирозин, триптофан, метионин и гистидин [5, 6] с высоким сродством и L-глутамин, L-аспарагин с низким сродством [5]. Так же (LAT-1)-комплекс является переносчиком некоторых D-изомеров аминокислот (D-фенилаланин и D-лейцин).

Экспрессия LAT-1 гораздо выше в мутировавших клетках по сравнению с экспрессией в здоровых тканях. Предполагается, что это связано с накоплением незаменимых АК для дальнейшего синтеза патологических протеинов.

Аминокислоты – перспективный класс визуализирующих агентов. В первую очередь сигналом является скорость и механизм транспорта АК, а не синтезируемые из них белки. Исследования показали, что $[^{11}\text{C}]$ – метионин усваивается в клетках миеломы значительно активнее $[^{18}\text{F}]$ -ФДГ [19].

1.4 Эффективность диагностики множественной миеломы

В настоящее время исследуются способы ПЭТ – визуализации миеломной болезни, перечисленные выше. Несмотря на общую доступность препарата $[^{18}\text{F}]$ -ФДГ, около 40% случаев заболевания множественной миеломой не определяются с её помощью. Альтернативным способом диагностики является визуализация с $[^{64}\text{Cu}]$ -CB-TE1F1P-LLP2A, который успешно связывается с рецепторами клеточной адгезии, активно экспрессирующиеся миеломной клеткой, но на поздних стадиях болезни. Этот способ позволяет диагностировать миелому только после 30 – 50 % разрушения костей, что не позволяет предупредить заболевание или купировать его.

Ещё одним альтернативным способом диагностики миеломы является визуализация с радиоактивным аналогом холина, который сам по себе является «стройматериалом» для клеточной мембраны. Для подтверждения зависимости

поглощения холина и пролиферации миеломных клеток необходимы доклинические и клинические исследования.

Сверхэкспрессия синтазы жирных кислот миеломной клеткой свидетельствует о возможности применения в качестве ПЭТ – трассера [^{11}C] – ацетата. Клинические исследования показали лучшую чувствительность [^{11}C] – ацетата по сравнению с [^{18}F]-ФДГ. Кроме того, снижение потребления [^{11}C] – ацетата после лечения свидетельствует о наличии ответа на терапевтическое воздействие.

Наиболее перспективным способом диагностики миеломной болезни является ПЭТ – визуализация с радиоактивно мечеными аминокислотами. Поскольку для синтеза патологических белков миеломной клетке необходим изолейцин, всегда встречающийся в переменных последовательностях аминокислот, я предполагаю, что именно его радиоактивный аналог будет успешно накапливаться в опухоли и даст возможность диагностировать миелому более селективно и на более ранних стадиях заболевания.

Глава 2 РАСЧЕТНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Моделирование [^{18}F] – изолейцина

2.1.1 Объект исследования

Объектом исследования является молекула изолейцина, меченная радиоактивным изотопом ^{18}F по пятому атому углерода, L – 5 – [^{18}F] – изолейцин. Структура молекулы, полученная в программе HyperChem, представлена на рисунке 2.

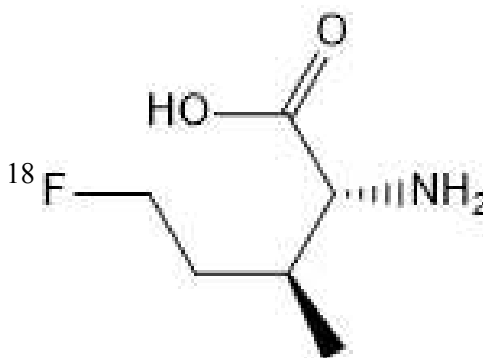


Рисунок 2 – Молекула L – 5 – [^{18}F] – изолейцина

Для оценки всех параметров исследуемой молекулы L – 5 – [^{18}F] – изолейцин сравнивали с изолейцином.

2.1.2 Инструмент исследования

Для вычислительных расчетов была использована программа HyperChem. Это программное обеспечение позволяет создавать, анализировать и управлять атомными и молекулярными структурами. Для создания трехмерных структур можно использовать встроенный графический редактор. Кроме того, можно последовательно выбирать остатки из встроенных библиотек аминокислот, нуклеотидов и элементарных кристаллических ячеек Hyperchem для создания белков, нуклеиновых кислот и кристаллических структур.

Пакет программ HyperChem предоставляет широкий выбор аналитических инструментов, которые помогают в концептуализации более глубокого понимания поведения молекул и их взаимодействия. Программное обеспечение дает возможность исследования реакционной способности молекул и оценка химических путей и механизмов реакций.

Программа HyperChem позволяет проводить расчеты энергии и геометрическую оптимизацию молекул методами молекулярной механики (MM, AMBER и OPLS), полуэмпирическими (CNDO, INDO, MINDO, MNDO, AM1, PM3) и методами *ab initio*. Несмотря на то, что все перечисленные методы могут быть недостаточно точными для прогнозирования оптимизированной геометрии, HyperChem обеспечивает удобную среду для выполнения квантово-химических расчетов. Часто исследователям требуется только приблизительная молекулярная структура для анализа механизмов или, возможно, конечного продукта реакционной последовательности.

Пакет программ HyperChem позволяет одновременно рассчитать геометрию молекул, дипольные моменты, энтальпии, потенциалы ионизации, распределение зарядов, порядки связей, спиновые плотности и т.п. Причём эти данные можно получить и для несуществующих в действительности молекул. Можно прогнозировать некоторые характеристики для гипотетических молекул, не прибегая к эксперименту.

2.1.3 Оптимизация геометрии [^{18}F] – изолейцина

Для анализа небольших по молекулярной массе и простых по структуре молекул рекомендуется [20] использовать полуэмпирические методы расчета. Для оптимизации геометрии L – 5 – [^{18}F] – изолейцина был выбран полуэмпирический метод CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap, полное пренебрежение дифференциальным перекрыванием).

Квантовая механика использует уравнения, основанные на методе Хартри-Фока и уравнениях Рутана, базируясь на которых CNDO моделирует

атомы и их положение в пространстве. Эти уравнения решаются итеративно до точки, где результаты не сильно различаются между двумя итерациями. Следует отметить, что CNDO не включает информацию о химических связях, но вместо этого использует данные о квантовых волновых функциях.

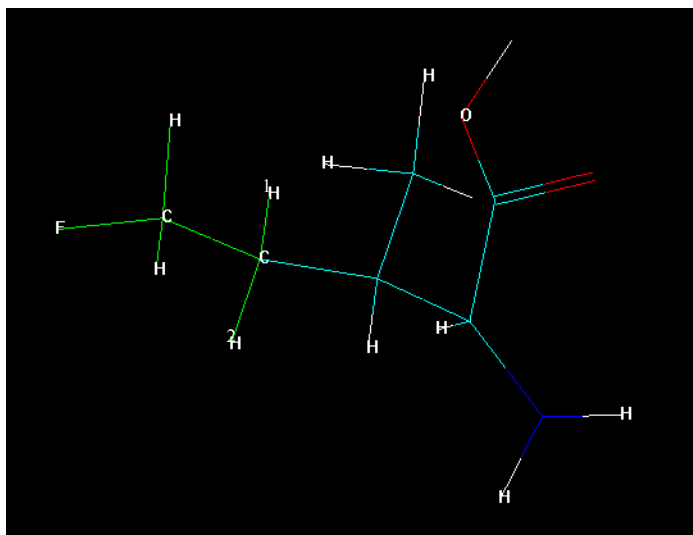


Рисунок 3 – Измеряемые геометрические параметры $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина

На рисунке 3 выделена область, в которой производились измерения геометрических параметров молекулы $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина. Выбор области связан с изменением химического состава молекулы и заменой атома $[^1\text{H}]$ на атом $[^{18}\text{F}]$. Геометрические параметры молекулы изолейцина измеряли в той же области. Для начальной оценки смещения электронной плотности измерили длины связей C–O и C=O, а так же валентный угол O–C=O.

Таблица 1 – Геометрические параметры изолейцина и $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина

Измеряемые параметры	Изолейцин	$[^{18}\text{F}]$ -изолейцин
1	2	3
Длины связей, Ангстрем:		
C-C		
C-H	1.469	1.474
C-F	1.120	1.125
C-O		1.355
C=O	1.385	1.385
	1.342	1.342
1	2	3
Валентные углы		
H-C-H	107.064 / 106.221 / 105.763	106.422
C-C-H	113.260 / 112.953 / 111.066	113.403 / 113.013

F-C-H		106.176 / 106.5
C-C-F		110.833
O-C=O	115.858	115.982
Торсионные углы		
H1-C-C-H	67.946 / -50.899 / -172.83	75.815 / -162.952
H2-C-C-H	163.244 / -44.40 / 74.824	-171.734 / -50.50
C-C-C-H	74.181 / -166.974 / -47.75	74.391 / -46.843
F-C-C-H		68.808 / -43.644
C-C-C-F		-166.301

Из таблицы 1 видно, что электроотрицательный атом [^{18}F] не влияет на длины связей между углеродом и кислородом в гидроксильной группе аминокислоты, но валентный угол $\text{O}-\text{C}=\text{O}$ в молекуле [^{18}F] – изолейцина увеличивается из-за смещения электронной плотности. При фторировании молекулы изолейцина по пятому атому углерода происходит удлинение связей, изменение валентных и торсионных углов вследствие присоединения более электроотрицательного и объемного атома [^{18}F].

2.1.4 Основные квантовохимические параметры [^{18}F] – изолейцина

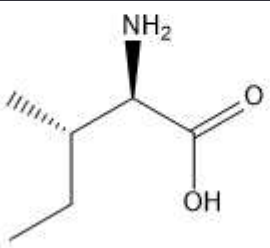
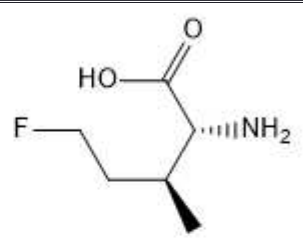
Полуэмпирический метод CNDO может использоваться как для замкнутых оболочек молекул, где все электроны спарены, так и для молекул с открытыми оболочками, то есть для радикалов с неспаренными электронами и заряженных ионов. Этот метод также используется в расчетах твердотельных и наноструктур.

Метод CNDO позволяет получить хорошие результаты для частичных зарядов атомов и молекулярного дипольного момента. Выбранный метод позволяет рассчитать общую энергию системы аминокислот с высокой точностью, о чем свидетельствует [21]. Значения для расчета наивысшей занятой молекулярной орбитали (HOMO –) и нижней незанятой молекулярной орбитали (LUMO+) рассчитываются, исходя из подхода с замкнутой оболочкой.

Таблица 2 – Основные квантовохимические параметры изолейцина и

[^{18}F] –изолейцина

Измеряемые	Изолейцин	[^{18}F]-изолейцин
------------	-----------	-------------------------------

параметры		
1	2	3
		
Общая энергия системы, кДж/моль	– 23 179.360	– 23 350.904
Энтальпия образования, кДж/моль	– 494.21	– 690.32
Энергия Гиббса, кДж/моль	– 282.70	– 477.51
Градиент, кДж/(моль*Ангстрем)	0,040	0,035
Наивысшая занятая молекулярная орбиталь (HOMO–), эВ	4.015	3.753
Нижняя незанятая молекулярная орбиталь (LUMO+), эВ	–10.181	–9.499
Частичные заряды атомов:		
С	0,001	0.224
Н	0,004	–0.011
F		–0.202
Дипольный момент, Дебаи	5.784	3.854

Согласно данным, приведенным в таблице 2, для образования молекулы L – 5 – [^{18}F] – изолейцина потребуется затратить в полтора раза больше энергии, чем для образования изолейцина (–690.32 кДж/моль против –494.21 кДж/моль). Энергия Гиббса так же значительно различается, что означает, что при вступлении в химическую реакцию L – 5 – [^{18}F] – изолейцина высвободится в полтора раза больше энергии, чем при участии в реакции изолейцина при тех же условиях.

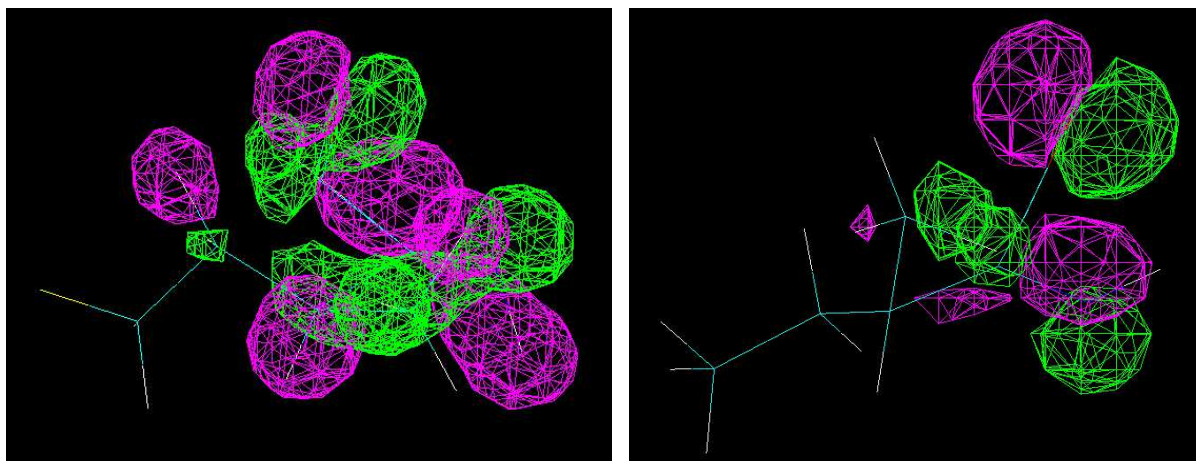


Рисунок 4 – Пространственное распределение валентных электронов в молекулах $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина (а) и изолейцина (б)

Пространственное распределение валентных электронов молекулы определяется наивысшей занятой молекулярной орбиталью. НОМО–изолейцина сосредоточена в области карбоксильной функциональной группы. Наивысшая незанятая молекулярная орбиталь $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина перераспределена относительно немеченой молекулы (рисунок 4).

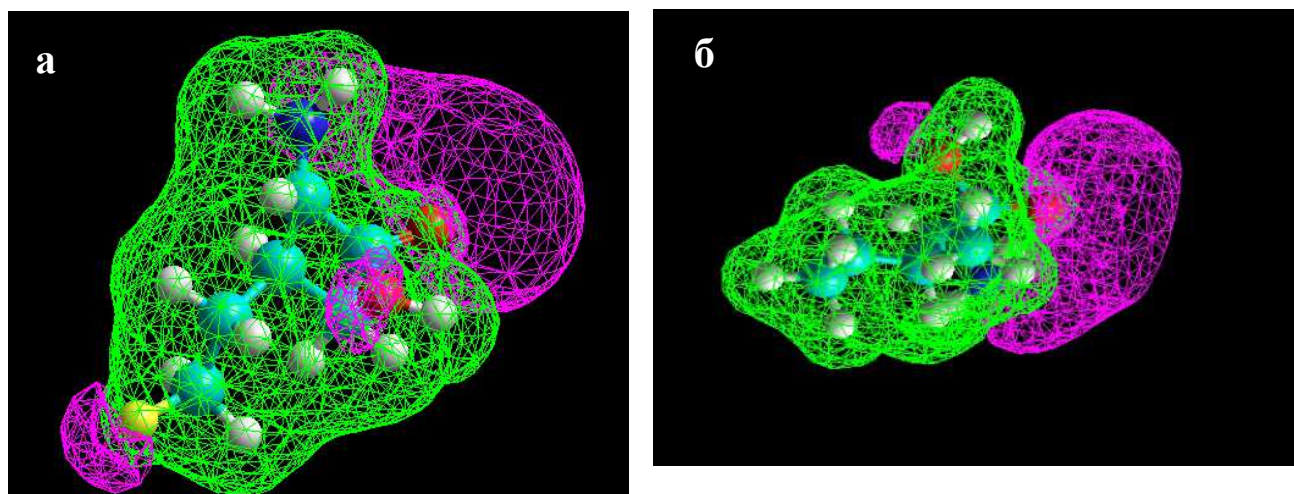


Рисунок 5 – Распределение электронной плотности в молекулах $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина (а) и изолейцина (б)

При фторировании молекулы происходит перераспределение электронной плотности (рисунок 5), частичный отрицательный заряд скапливается, в том числе, и на атоме [^{18}F]. Дипольный момент так же значительно изменяется, при фторировании молекула становится менее полярной, так как частичный отрицательный заряд скоплен на обоих концах молекулы.

2.2 Условия подобия лекарству

Одной из самых значимых концепций в доклиническом обнаружении лекарств является «правило пяти» Липинского. Из-за своей простоты и простоты внедрения в вычислительных протоколах обнаружения лекарств, особенно при обрезке результатов высокой пропускной способности или при разработке химических библиотек, эти рекомендации использовались несколько некритически и вскоре были приняты как синонимы «сходства с лекарствами». Эта экстраполяция оказала значительное влияние на общую важность правил Липинского в сообществе по обнаружению лекарств, ограничив исследование молекул, которые нарушали два или более из следующих условий:

- менее пяти атомов — доноров водородной связи (иначе из-за высокой реакционной способности соединение будет быстро окисляться и выводиться);
- молекулярный вес менее 500 а.е.м. (более крупные молекулы не пройдут через плазматическую мембрану);
- липофильность $\log P$ менее 5 (соединение с коэффициентом распределения на границе вода/октанол более 5 будет интенсивно депонировать в жировой ткани, в то время как более гидрофильные вещества обнаруживаются в билипидном слое клеток ($0 < \log P < 5$) и сыворотке крови ($\log P < 0$));
- не более 10 атомов азота и кислорода (грубая оценка количества акцепторов водородной связи) [22].

Следует учитывать, что приведенные условия подобия являются наиболее простым методом для оценки применимости соединения в качестве лекарства.

Правила Липинского не учитывают количество вращающихся связей и молекулярную гибкость, которые также имеют большое влияние на биодоступность молекулы.

Таблица 3 – Условия подобия лекарству

	Изолейцин	[¹⁸ F]-изолейцин
Молекулярная масса, а.е.м.	131.175	149.085
Липофильность, log P	-1.69	-0.084
Количество акцепторов H ⁺	2	3
Количество доноров H ⁺	2	2

Согласно данным таблицы 3, L – 5 – [¹⁸F] – изолейцин, как и изолейцин, не нарушает ни одного условия подобия лекарству. Количество доноров ионов водорода не изменяется, количество акцепторов увеличивается в связи с добавлением атома [¹⁸F].

Изолейцин проявляет более ярко выраженную гидрофильность, исходя из рассчитанных значений log P (– 1.69). Близкий к 0 log P для L – 5 – [¹⁸F] – изолейцина (– 0.084) означает равномерное распределение молекулы в водной и жировой фазах. Гидрофобность (липофильность) характеризует распределение соединения в организме, его токсичность, биологическую активность, способность к взаимодействию с биологическими рецепторами и ферментами, а так же проницаемость вещества через клеточную мембрану [23].

2.3 Проницаемость через клеточную мембрану

Предсказание скорости неациклированного проникновения растворенных веществ в липидных бислоях важно для разработки лекарств, токсикологии и сигнализации. Эти коэффициенты можно оценить с помощью моделирования молекулярной динамики в сочетании с неоднородной моделью растворимости-диффузии, которая требует расчета потенциала средней силы и зависящей от положения диффузии растворенного вещества по трансмембранной оси. Полупроницаемый характер мембраны приводит к эффективной «селективности», когда небольшие неполярные соединения могут проникать

через мембрану с заметными скоростями. В отличие от трансмембранных ионных каналов и транспортеров, которые тщательно контролируются клеткой, пассивная избирательность не регулируется активно, а вместо этого возникает по существу из сил и колебаний, присутствующих в среде мембраны.

Включение метки в продукт из меченой аминокислоты, вводимой в интактные клетки, зависит от ее переноса через клеточную мембрану, а также от её метаболизма внутри клетки. Интерпретация данных, описывающих такое включение, требует количественной информацией, касающейся транспорта и уравнивания между внеклеточными и внутриклеточными аминокислотными пулами.

Для оценки проницаемости L – 5 – [¹⁸F] – изолейцина через клеточную мембрану пользовались формулой, приведенной в работе американских авторов [32]. В явном виде проницаемость р аминокислоты можно вычислить как:

$$Pf(x) = \lambda^2 \frac{kT}{h} e^{-\Delta H/RT} e^{\Delta S/R}, \quad (1)$$

где $f(x)$ – функция толщины мембраны.

Так как в настоящей работе исследуются сравнительные параметры фторированного и нефторированного изолейцина, то изменение проницаемости можно выразить отношением, где неявная функция $f(x)$ сократится:

$$p_1/p_2 = \exp\left[\frac{\Delta H_2 - \Delta H_1}{RT}\right] \times \exp\left[\frac{\Delta S_1 - \Delta S_2}{R}\right], \quad (2)$$

где p_1, p_2 – проницаемость молекул фторированной и нефторированной молекулы изолейцина, соответственно; $\Delta H_1, \Delta H_2$ – их энтальпии образования, кДж/моль; $\Delta S_1, \Delta S_2$ – их энтропии, кДж/(моль*К); R – газовая постоянная, 8.314 [кДж/(моль*К)]; T – температура, К.

Значения энтальпии и энтропии изолейцина и его меченого атомом $[^{18}\text{F}]$ аналога рассчитали в программе HyperChem, полученные результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Параметры для расчета отношения проницаемости изолейцина и $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина

	ΔS , кДж/(моль*К)	ΔH , кДж/моль
Изолейцин	0.377	–494.21
$[^{18}\text{F}]$ – изолейцин	0.406	–690.32

Расчёт производили при температуре, приближённой к температуре внутри организма (300К). Полученное отношение проницаемостей фторированного изолейцина к изолейцину получилось меньше единицы ($p[^{18}\text{F}]/p[\text{F}]=0.973$), что свидетельствует о худшей проницаемости $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина через плазматическую мембрану. Но полученное значение достаточно близко к единице, чтобы утверждать, что $[^{18}\text{F}]$ – изолейцин будет транспортироваться в клетку по тому же механизму, что и изолейцин.

2.4 Образование пептидных связей

Для оценки способности L – 5 – $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина к созданию пептидных (амидных) связей исследовали энергии связей дипептидов, состоящих из остатков L – 5 – $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина, последовательно соединенными с прочими аминокислотами.

Принцип образования малых пептидов описан во многих работах [24 – 26]. При образовании дипептидов происходит простой химический процесс: отщепляется молекула воды от α – аминогруппы и карбоксильной (рисунок 4). В процессе образования амидной связи участвует $[\text{OH}^-]$ – группа одной аминокислоты и катион $[\text{H}^+]$, связанный с атомом азота, другой. Принципиальная схема образования амидной (пептидной) связи представлена на рисунке 6.

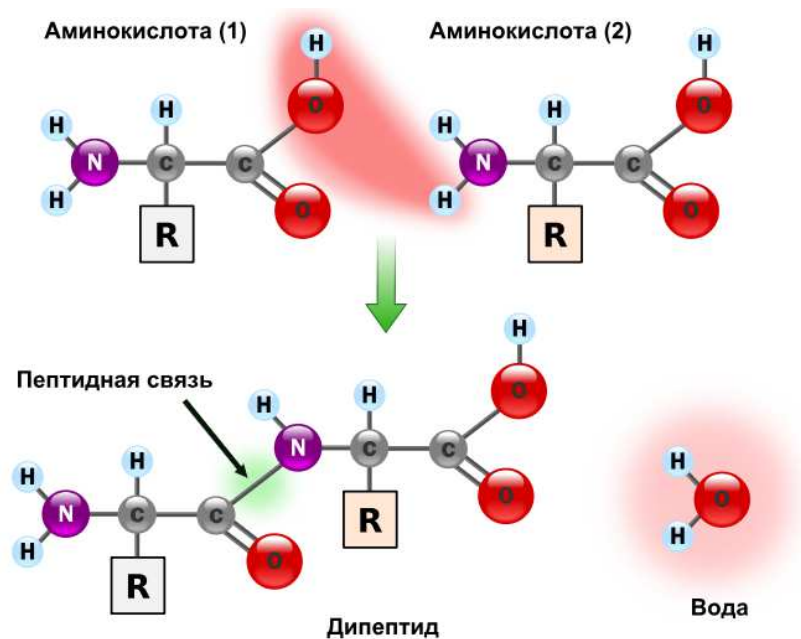


Рисунок 6 – Образование пептидной связи

При образовании любой амидной связи, в том числе и пептидной, наблюдается резонанс канонических структур (рисунок 6), вследствие которого новообразованная связь $C - N$ частично имеет двойной характер, что влияет на её длину (уменьшается до 1.33 \AA).

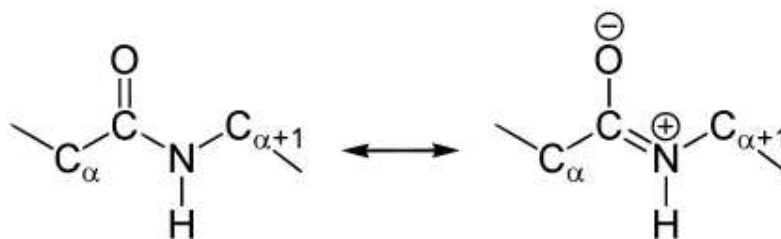


Рисунок 6 – Резонансные структуры амидной связи в дипептиде

Кроме того пептидная связь обладает следующими свойствами:

- атомы, образующие амидную связь (O, N, H, C), и два α – углерода лежат в одной плоскости, за пределы которой выходят радикальные группы аминокислот и водороды, связанные с α – углеродами;

- вращение вокруг частично двойной связи между атомами [C] и [N] затруднено, но возможно вокруг связей C – α C. поскольку транс – изомер более устойчив, чем цис – изомер, атомы [H], [O] и α – углероды находятся в транс – положении (рисунок 7), что наблюдается во всех природных белках и пептидах;

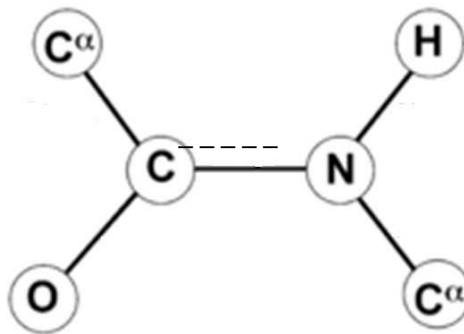


Рисунок 7 – Транс – ориентация амидной связи в дипептиде

- вращение вокруг частично двойной связи между атомами [C] и [N] затруднено, но возможно вокруг связей C – α C.

таблица 5

Аминокислоты	Общая энергия молекулы, ккал/моль	Общая энергия системы изолейцин – АК, ккал/моль	Энергия связи, ккал/моль	Общая энергия системы ^{18}F -изолейцин – АК, ккал/моль	Энергия связи, ккал/моль	^{18}F -ile-AK /Ile-AK
Аланин	-2598.298	-7992.166	-444.611	-8054.771	-424.840	0.956
Глицин	-1806.374	-7204.507	-448.876	-7253.648	-415.641	0.926
Лейцин	-4941.606	-10333.832	-442.969	-10379.493	-406.254	0.917
Тирозин	-6719.994	-11805.235	-135.984	-12117.620	-365.993	1.551
Серин	-2857.593	-7978.182	-171.332	-8269.960	-380.734	1.025
Глутаминовая кислота	-4261.264	-9553.478	-342.957	-9628.156	-335.259	0.978
Глутамин	-4614.147	-10005.378	-441.974	-9799.593	-153.813	0.348
Аспарагиновая кислота	-3757.845	-8801.421	-94.319	-8951.021	-161.543	1.713
Аспарагин	-3912.573	-9216.503	-354.673	-9113.801	-169.595	0.478
Фенилаланин	-6445.801	-11535.706	-140.648	-11631.388	-153.954	1.095
Лизин	-5413.838	-10860.725	-497.180	-10857.783	-412.312	0.829
Аргинин	-6203.098	-11377.202	-224.847	-11423.395	-188.664	0.839
Гистидин	-5413.840	-10629.855	-266.758	-10675.992	-230.519	0.864
Цистеин	-2577.144	-7972.303	-445.902	-7989.409	-380.632	0.854
Валин	-4215.377	-9543.950	-379.316	-9607.195	-360.185	0.950
Пролин	-4046.690	-9466.475	-470.528	-9500.431	-422.108	0.897
Триптофан	-8158.934	-13375.086	-266.895	-13323.025	-132.458	0.496
Метионин	-4074.249	-9216.185	-192.679	-9427.657	-321.775	1.670
Треонин	-3608.364	-8995.220	-437.599	-9052.376	-412.379	0.942
Изолейцин	-4949.257	-10348.005	-449.491			0.917
^{18}F -изолейцин	-5031.633			-10392.939	-412.049	
$\zeta = 18F - ile - AK / Ile - AK$						0.962

Энергией связи между молекулами А – Б принято считать ту энергию, которую необходимо затратить для разрыва образовавшейся связи и разведения этих молекул на бесконечно большое расстояние. Расчет энергии связи производили по формуле:

$$E_{\text{связи}} = E_{\text{общ}} - (E_{\text{АК}} + E_{\text{иле}}) \quad , \quad (3)$$

где $E_{\text{общ}}$ – общая энергия системы дипептида, $E_{\text{АК}}$ – общая энергия аминокислоты, входящей в состав дипептида, $E_{\text{иле}}$ – общая энергия изолейцина ($[^{18}\text{F}]$ – изолейцина).

Результаты расчетов энергии связи дипептидов с меченым и немеченым изолейцином представлены в таблице 5. Для оценки способности $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина к созданию пептидных связей взяли отношение энергий связи $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина к изолейцину. Из данных, приведенных в таблице 5, видно, что отношение энергий связи в большинстве случаев незначительно меньше единицы, что свидетельствует о худшей способности создавать амидные связи фторированным изолейцином с прочими аминокислотами. Дипептиды, образованные парами $[^{18}\text{F}]$ –изолейцин – глутамин, $[^{18}\text{F}]$ –изолейцин – аспарагин, $[^{18}\text{F}]$ –изолейцин – триптофан, образуют амидные связи значительно хуже, чем аналогичные пары с немеченым изолейцином, так как отношения энергий связи для этих дипептидов не превышают значения 0.5. Соответственно, для образования указанных дипептидов необходимо затратить минимум в два раза больше энергии по сравнению с дипептидами, содержащими немеченый изолейцин. Дипептиды, образованные $[^{18}\text{F}]$ –изолейцином и тирозином, аспарагиновой кислотой и метионином показывают отношения энергий связи превышающие значение единицы, следовательно образование амидных связей между двумя остатками аминокислот происходит с затратой меньшего количества энергии в случае с $[^{18}\text{F}]$ – изолейцином.

2.5 Модель кинетики L – [^{18}F] изолейцина в клетках костного мозга

Клеточное поглощение радиоактивности анализировалось в соответствии со схемой, продемонстрированной на рисунке 7. Начальную активность (A_0) рассчитывали, принимая во внимание дозовые коэффициенты для расчета эффективной дозы, полученной пациентом при диагностическом ПЭТ – исследовании, приведенные в МУ 2.6.1.3151-13 «Оценка и учет эффективных доз у пациентов при проведении радионуклидных диагностических исследований» [38]. При внутривенном введении РФП, меченых радионуклидом [^{18}F], дозовые коэффициенты принимают равными: для [^{18}F]-ФДГ – 0.027, для аминокислот – 0.023. При известном значении введенной активности для [^{18}F]-ФДГ, составляющей в среднем 370 – 400 МБк при обследовании всего тела, рассчитанная активность для L – 5 – [^{18}F] – изолейцина составит 310 – 340 МБк. Все произведённые вычисления по модели кинетики метки на основе L – 5 – [^{18}F] – изолейцина рассчитаны на культуру из 10^8 клеток. Предполагаемый радиохимический выход L – 5 – [^{18}F] – изолейцина для расчётов был взят близким к аналогичному параметру [^{18}F] – метионина (15%). За основу была взята модель кинетики меченых радиоактивным изотопом [^{11}C] аминокислот в клетках костного мозга [35].

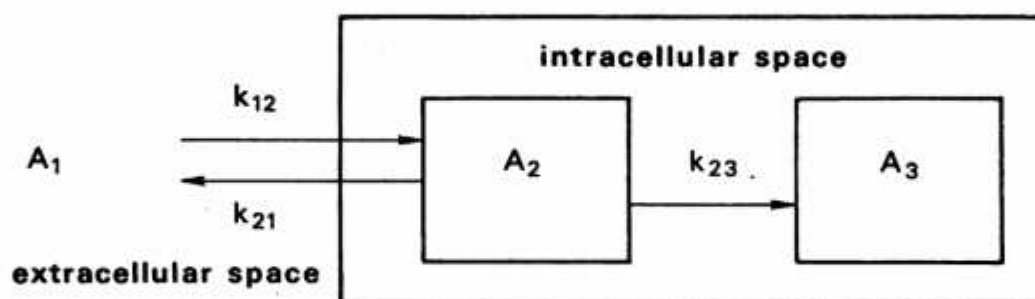


Рисунок 7 – Схема кинетики метки на основе ^{11}C меченых аминокислот

Описываемая система состоит из двух внутриклеточных компартментов A2 (неметаболизированное) и A3 (метаболизированное вещество), а также

вещества во внеклеточном пространстве A1. Между A1 и A2 поток меченых аминокислот свободный, он характеризуется константами транспорта k_1 и k_2 . Как правило, эти константы оцениваются по имеющимся экспериментальным данным. Переход из компартмента A2 в A3 идёт с удельной скоростью k_3 , что по сути характеризует встраивание аминокислоты в пептидную цепь в процессе синтеза белка.

Представленная схема была упрощена исключением компартмента внеклеточного пространства (A1) и заменой констант транспорта k_1 и k_2 на постоянный транспорт аминокислоты внутрь клетки (рисунок 8).

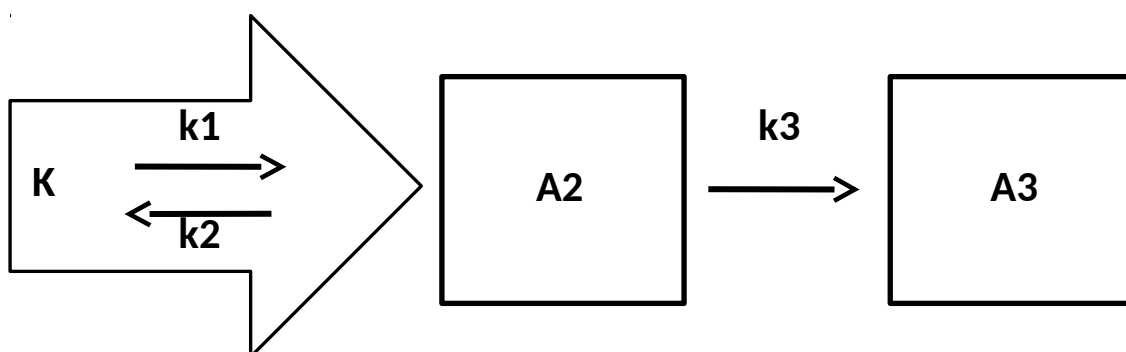


Рисунок 8 – Схема кинетики метки на основе $[^{18}\text{F}]$ – изолейцина

Предполагается, что препарат, однократно введённый в плазму крови, с незначительными потерями проникает в межклеточное пространство, а оттуда уже с постоянной удельной скоростью поступает в клетки. Такое упрощение позволило использовать имеющиеся в литературе данные по транспорту изолейцина, а также предсказать изменение скорости поступления фторированной молекулы, исходя из расчётных данных, полученных выше (уравнение 2).

Поток концентраций можно сразу пересчитать в поток активности. Вводимая доза 340 МБк соответствует 5.3 пмоль изолейцина. При обычной внеклеточной концентрации 10 мкмоль это даст долю меченого изолейцина во внеклеточном пространстве $0.53 \cdot 10^{-6}$.

Согласно [33], общая скорость поглощения изолейцина в клетку составляет $k_c = 0.3$ нмоль/мин = 0.005 нмоль/сек или, с учётом доли $0.005 \cdot 0.53 \cdot 10^{-6} = 2.65 \cdot 10^{-9}$ нмоль/сек меченого изолейцина.

В 1 нмоль находится $N = 6.02 \cdot 10^{14}$ атомов фторированного изолейцина, а, значит, столько же атомов $[^{18}\text{F}]$. Такое количество атомов даёт активность

$$A_M(t) = \lambda N 2^{-t/T_{1/2}} = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} N 2^{-t/T_{1/2}} = \frac{\ln 2}{109 \cdot 60} 6.02 \cdot 10^{14} 2^{\frac{-t}{109 \cdot 60}} = 6.38 \cdot 10^4 2^{-t/(109 \cdot 60)} \text{ МБк/нмоль.}$$

Отсюда, поток активности составит

$$K_c(t) = k_c \cdot A_M(t) = 2.65 \cdot 10^{-9} \cdot 6.38 \cdot 10^4 2^{\frac{-t}{109 \cdot 60}} = 0.17 \cdot 10^{-3} \cdot 2^{\frac{-t}{109 \cdot 60}} \text{ МБк/сек.}$$

Скорость перехода изолейцина из неметаболизированного состояния в метболизированное, была вычислена, основываясь на скорости метаболизма аминокислоты (для лейкемических клеток ~ 16 нмоль/час, что на порядок выше скорости метаболизма здоровых клеток), взятой из статьи «Rate of Isoleucine Metabolism in Lepidopteran Corpora Allata: Regulation of the Proportion of Juvenile Hormone Homologues Released» [34]. Изменение скорости метаболизма фторированного изолейцина относительно нефторированного было взято соответствующим усредненному изменению способности меченой молекулы формировать пептидные связи с другими аминокислотами (таблица 5).

Итоговая модель, учитывающая изменение проницаемости и скорости метаболизма фторированного изолейцина относительно его немеченого аналога, будет иметь вид:

$$\begin{aligned} \frac{d A_2}{dt} &= \frac{p_1}{p_2} K_c(t) - \zeta \cdot k_3 A_2 \\ \frac{d A_3}{dt} &= \zeta \cdot k_3 A_2 \end{aligned} \quad (3)$$

Параметры для расчёта накопленной активности приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Параметры для расчета накопленной активности

	K_C , МБк/сек	k_3 , мин ⁻¹
Изолейцин		0.0075
[¹⁸ F] – изолейцин	$0.17 \cdot 10^{-3}$	0.0072

Результатом моделирования стала возможность оценки динамики накопленной активности меченого изолейцина внутри клеток согласно:

$$A(t) = (A_2(t) + A_3(t))e^{-\lambda t}, \quad (4)$$

где $\lambda = \ln(2)/109$ [1/мин] – константа радиоактивного распада атома [¹⁸F].

Максимальная накопленная активность фторированного изолейцина наблюдается в момент около 120 минут (рисунок 9).

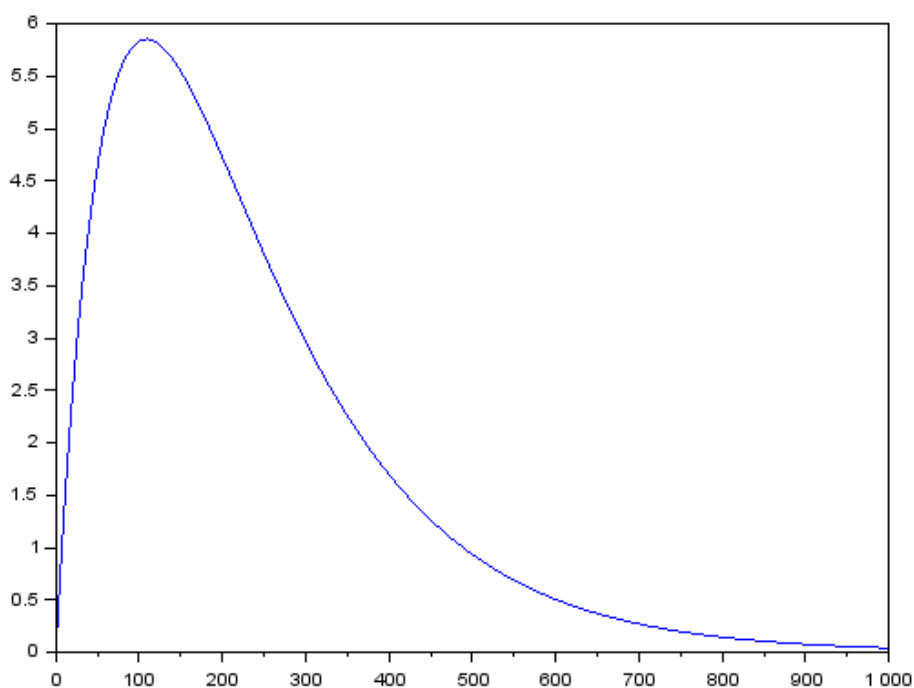


Рисунок 9 – График накопления активности

Из-за того, что проницаемость фторированного изолейцина относительно низка, в клетках нельзя достичь высокой активности препарата. В здоровых клетках, максимальная активность должна составлять порядка 0.4 МБк. В клетках ММ, со скоростью метаболизма (и, соответственно, скоростью

поглощения) большей на порядок, чем у здоровых клеток, максимальная

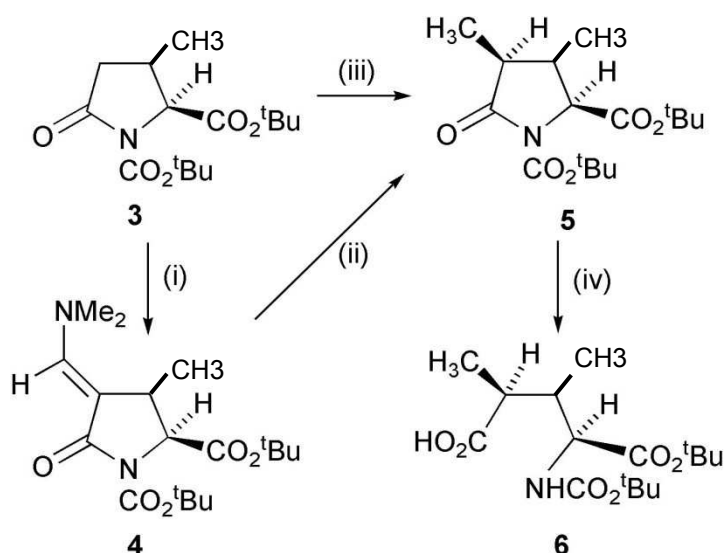
активность будет около 6 МБк, что соответствует
$$FUR = \frac{A_2 + A_3}{\int_0^T C_{plasma} dt} = \frac{6}{340} = 0.018$$

(1/мин), что должно позволить визуализировать возможный злокачественный процесс, локализованный в плоских костях. Исходя из того, что на данный момент не существует эффективных РФП для диагностики миеломной болезни, предложенный способ ПЭТ – визуализации множественной миеломы позволяет диагностировать заболевание на более ранних стадиях.

2.6 Схема синтеза прекурсора

Синтез предшественника (прекурсора) фторированной молекулы изолейцина предполагается провести по схеме, предложенной авторами [36] для лейцина, учитывая изменение химической структуры исходной молекулы и связанные с этим изменения условий проводимых химических реакций. Фторирование полученного прекурсора с защищёнными реакционно способными функциональными группами предполагается провести, согласно [37], с последующим снятием защитных групп и получением чистого L – 5 – [^{18}F] – изолейцина с предполагаемым радиохимическим выходом, близким к тому же показателю [^{11}C] – метионина (около 15%). Поскольку последний этап получения готового РФП (фторирование) проходит по той же схеме и химическим механизмам, что и фторирование [^{18}F] – ФДГ, этот процесс можно проводить в существующих в РФ лабораториях.

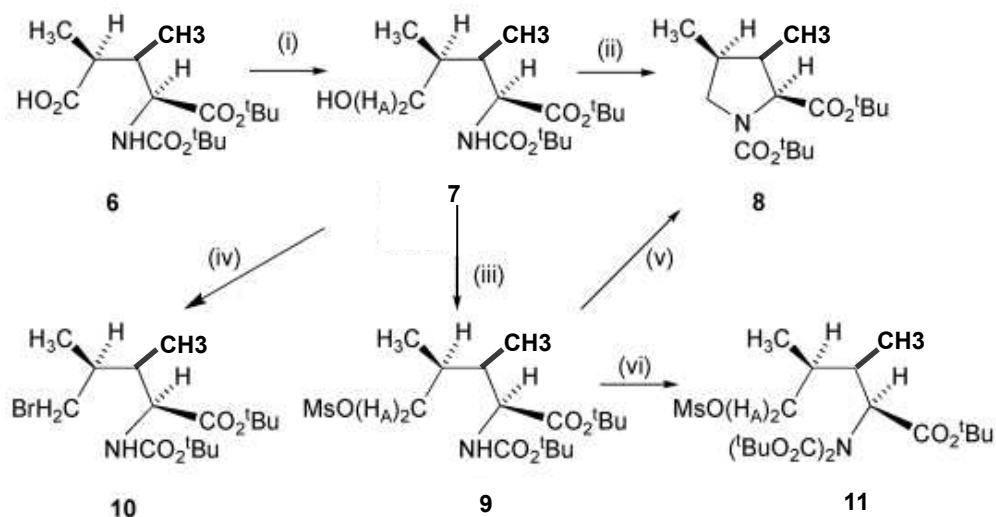
Отправной точкой для синтеза (2S, 4S) – изомеров был третбутил (2S, 4S) -N-третбутоксикарбонил-3,4-диметилпироглутамат (5), который изготавливают, как показано на схеме 1.



Реактивы и условия: (i) $t\text{BuOCH}(\text{NMe}_2)_2$ / диметоксиметан / Δ , 83%; (ii) H_2 / 10% Pd-C / EtOAc, 78%; (iii) (a) LiHMDS / ТГФ / 78°C , $\text{MeOSO}_2\text{CF}_3$, 75%; (b) LiHMDS, ТГФ – 78°C / 2,6-дитретбутилфенол, 89%; (iv) LiOH / H_2O / ТГФ / 0°C , 94%.

Схема 1 – Синтез третбутила – (2S, 4S) – N – третбутоксикарбонилм – 3,4– диметилпироглутамата (5)

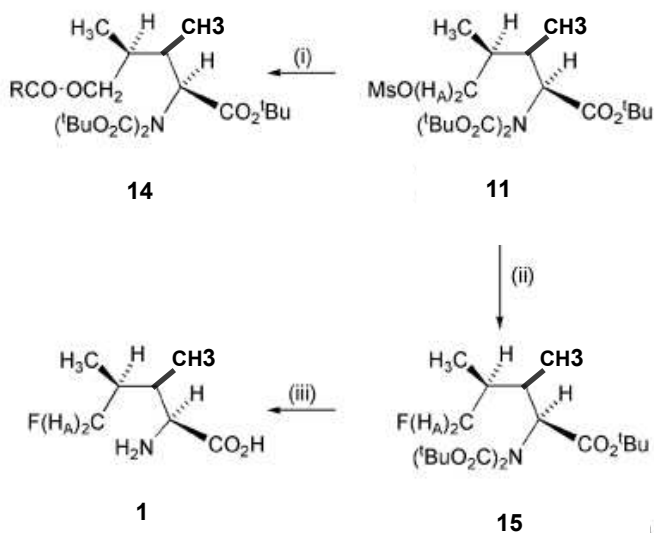
Затем полученный диметилпироглутамат подвергают гидролизу с получением кислоты (6) с использованием водного раствора LiOH (94%) в тетрагидрофуране. Далее в реакциях участвует соединение (6) с образованием смешанного ангидрида (7) с последующим восстановлением либо NaBH_4 , либо NaB_2H_4 получают спирты 8, 9, 10 соответственно (схема 2). Соединения (8) и (10) удаляются из реакции, поскольку в дальнейших процессах превращения участвует мезилат (9).



Реагенты и условия: (i) NEt_3 / ТГФ / BuO_2CCl / 40°C / NaBH_4 / H_2O / ТГФ / 0°C , 84%; (ii) DAST / ТГФ / 40°C , 63%; (iii) MeSO_2Cl / пиридин / CH_2Cl_2 , 96%; (iv) Ph_3P / CBr_4 / CH_3CN , 0°C , 47%; (v) TBAF / ТГФ, 95%; (vi) $(\text{Boc})_2\text{O}$ / диметиламилопиридин / CH_3CN , 93%

Схема 2 – Синтез бис-уретана (11) через промежуточную стадию мезилата (9)

Приготовление мезилата (9) происходит без циклизации, реакцией гидратации по механизму электрофильного присоединения $\text{Ad}_{\text{E}}2$ (7) с метансульфонилхлоридом в дихлорметане, содержащем триэтиламин. Для защиты азота мезилат (9) обрабатывают дитретбутилдикарбонатом в ацетонитриле, содержащем каталитическое количество 4,4 – диметиламилопиридина, получая бис-уретан (11). 2-мезитиленсульфоновая кислота имеет менее нуклеофильное конъюгатное основание, и поэтому в настоящее время она используется для уменьшения основности фторида тетрабутиламмония в реакции с мез



Реагенты и условия: (i) TBAF/ $(\text{CH}_3)_3\text{CCO}_2\text{H}$ /THF/ Δ , 74% (ii) TBAF / 2-мезитиленсульфоновая кислота / THF / Δ , 69%; (iii) 6М водн. HCl, 96%; (iv) FmocOSu / Na_2CO_3 / ацетон, 96%.

Схема 3 – Получение конечного продукта синтеза – $[\text{}^{18}\text{F}]$ -изолейцина

Фторид (15) с защитными группами на реакционноспособных карбоксильной и аминогруппах предполагается готовить из бис-уретана, полученного на предыдущем этапе синтеза. Снятие защитных групп с полученного фторида с использованием 6 М водной HCl (схема 3) даст смесь 2S, 4S – изомеров L-5- $[\text{}^{18}\text{F}]$ -фторизолейцина (1). Полученный препарат предполагает готовность для использования в качестве РФП для ПЭТ – визуализации множественной миеломы.

ВЫВОДЫ

- Рассчитаны основные квантовохимические параметры молекул L – [^{18}F] – изолейцина и L – изолейцина, описано влияние атома [^{18}F] на распределение электронной плотности, пространственное распределение валентных электронов. Рассчитаны энтальпии образования (– 494.21 и – 690.32 кДж/моль), энергия Гиббса (–282.70 и –477.51 кДж/моль) и дипольные моменты (5.784 и 3.854 Дебая) для L – изолейцина и L – [^{18}F] – изолейцина.

- Рассчитано влияние радиоактивного атома [^{18}F] в изолейцине на энергию формирования пептидных связей между аминокислотами и L – [^{18}F] – изолейцином в сравнении с L – изолейцином. Согласно расчётным данным, фторированная молекула сложнее образует амидные связи во всех случаях, кроме дипептидов с тирозином, аспарагиновой кислотой и метионином. Для этих дипептидов отношение энергий связи превышает 1. Усредненное отношение энергий связи L – [^{18}F] – изолейцина к изолейцину меньше 1 (0.962), что характеризует более энергозатратное образование пептидных связей в случае фторированной молекулы.

- Рассчитанное отношение проницаемости L – [^{18}F] – изолейцина к L – изолейцину составило 0.973, соответственно, изолейцин, меченный атомом [^{18}F], хуже проникает через плазматическую мембрану. Однако отношение, близкое к 1, позволяет предположить, что транспортировка фторированной молекулы в клетку будет происходить по тому же механизму, что и L – изолейцин с помощью LAT – 1 комплекса.

- Вычислена дозовая нагрузка на основе модели кинетики метки изолейцина. Согласно рассчитанным данным, максимальная активность, достигаемая в клетках, находится в районе 6 МБк и достигается через ~120 минут после приёма препарата. Ввиду отсутствия специфичных для множественной миеломы средств визуализации, предложенный РФП на основе L – [^{18}F] – изолейцина может стать удачным решением проблемы диагностики пациентов с миеломной болезнью.

- Предложена схема синтеза прекурсора для последующего фторирования с получением РФП на основе синтеза прекурсора L – [^{18}F] – лейцина, учитывающая особенности химического строения изолейцина и связанные с этим изменения условий реакций. Фторирование молекулы и снятие защитных групп с реакционно-активных функциональных групп происходит по тем же механизмам, что и фторирование [^{18}F] – ФДГ, что позволяет получить конечный продукт с удовлетворительным выходом.

-

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Ravi Vij et. al., New approaches to molecular imaging of multiple myeloma, Mallinckrodt Institute of Radiology, Department of Radiology, 2015.
- 2 Tomblin J. K., et al. «Aryl hydrocarbon receptor (AHR) regulation of L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT-1) expression in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells», 2016.
- 3 Br. J. Haematol, Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group // International Myeloma Working Group. — 2003.
- 4 R.A. Kyle, S.V. Rajkumar, Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma // Leukemia. — 2009.
- 5 D.H. Ryan et.al., Vascular cell adhesion molecule-1 and the integrin VLA-4 mediate adhesion of human B cell precursors to cultured bone marrow adherent cells, Department of Pathology, University of Rochester Medical Center, New York, 1991.
- 6 V. Michel, et.al., Choline transport for phospholipid synthesis, Department of Human Health and Nutritional Sciences, Animal Science and Nutrition Building, Rm. 346, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada. — 2006.
- 7 Hosios AM, Vander MG. Heiden Acetate metabolism in cancer cells, Koch Institute for Integrative Cancer Research at Massachusetts Institute of Technology, Cambridge. — 2014.
- 8 Kamphorst JJ, Chung MK, Fan J, Rabinowitz JD. Quantitative analysis of acetyl-CoA production in hypoxic cancer cells reveals substantial contribution from acetate. *Cancer & Metabolism*. 2014.
- 9 C. Ward,. Glucose transport [internet]. 2015 Jan 21; rev. no. 33. Available from: <https://doi.org/10.14496/dia.5104085195.33>. — 2015.
- 10 F.-Q.Zhao, et.al., Functional Properties and Genomics of Glucose Transporters Lactation and Mammary Gland Biology Group, Department of Animal Science, University of Vermont, Burlington, VT, USA. — 2007.

11 M. Mueckler, et.al., Structure, function, and biosynthesis of glut1, Biochemical Society Transactions, Department of Cell Biology and Physiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, USA. – 1997.

12 Q. Yu, et al., Functional Analyse of GLUT1 and GLUT12 in Glucose Uptake in Goat Mammary Gland Epithelial Cells, Veterinary College, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, PR China. – 2013.

13 Ph. L. Yeagle, Membrane Transport in The Membranes of Cells (Third Edition), 2016.

14 Christian Plathow, Tumor Cell Metabolism Imaging, Department of Nuclear Medicine, University of Freiburg, Freiburg, Germany. – 2013.

15 Osamu Yanagida, et al. Human L-type amino acid transporter 1 (LAT1): characterization of function and expression in tumor cell lines, Second Department of Surgery, Kyorin University School of Medicine, Mitaka, Tokyo, Japan. – 2001.

16 J. K. Tomblin, et al. Aryl hydrocarbon receptor (AHR) regulation of L-Type Amino Acid Transporter 1 (LAT-1) expression in MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells, Department of Pharmacology, Physiology and Toxicology, Joan C. Edwards School of Medicine, Marshall University, 1 John Marshall Drive, Huntington, USA, 2016.

17 P.R. Greipp, et a.l International staging system for multiple myeloma Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology, Mayo Clinic College of Medicine and Eastern Cooperative Oncology Group, Rochester, MN, USA. – 2005.

18 C.F. Healy, et al. Multiple myeloma: a review of imaging features and radiological techniques. Bone marrow research. Department of Radiology, Mater Misericordiae University Hospital, Dublin, Ireland. – 2011.

19 Kropil P, Fenk R, Fritz LB, et al. Comparison of whole-body 64-slice multidetector computed tomography and conventional radiography in staging of multiple myeloma. European radiology. 2008.

20 Lammeren-Venema D, Regelink JC, Riphagen II, et al. ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography in assessment of myeloma-related bone disease: A systematic review. *Cancer*. 2012.

21 Lingle Wang, et al. «Accurate and Reliable Prediction of Relative Ligand Binding Potency in Prospective Drug Discovery by Way of a Modern Free-Energy Calculation Protocol and Force Field», 2015.

22 C. Abad-Zapatero, «Analysis of the Content of SAR Databases», in *Ligand Efficiency Indices for Drug Discovery*, 2013.

23 Кириллов В.Ю. Определение коэффициентов распределения α -аминофосфонатов методами компьютерной химии / В.Ю. Кириллов, Р.Ш. Еркасов // Мат. II Междунар. науч.-практ. конф. Европейская наука XXI века – 2009. – Чехия, Прага, 2009.

24 Якубке Х.-Д. Аминокислоты, пептиды, белки / Х.-Д. Якубке, Х. Ешкайт // Пер. с нем. – М.: Мир, 1985, 426 с.

25 R. Arlinghaus, et.al., Mechanism of peptide bond formation in polypeptide synthesis, Department of biochemistry, University of Kentucky college of medicine, Lexington, 1964.

26 A. Radzicka, R. Wolfenden, Rates of Uncatalyzed Peptide Bond Hydrolysis in Neutral Solution and the Transition State Affinities of Proteases, Contribution from the Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina, 1996.

27 Nanni C, Zamagni E, Cavo M, et al. ^{11}C -choline vs. ^{18}F -FDG PET/CT in assessing bone involvement in patients with multiple myeloma. *World journal of surgical oncology*. 2007.

28 Calabria F, Chiaravalloti A, Schillaci O. ^{18}F -choline PET/CT pitfalls in image interpretation: an update on 300 examined patients with prostate cancer. *Clinical nuclear medicine*. 2014.

29 Wang WQ, Zhao XY, Wang HY, et al. Increased fatty acid synthase as a potential therapeutic target in multiple myeloma. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2008.

30 Y. Okawa, et al. Fatty acid synthase is a novel therapeutic target in multiple myeloma. British journal of haematology. LeBow Institute for Myeloma Therapeutics and Jerome Lipper Myeloma Center, Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA. – 2008.

31 Lin C, Ho CL, Ng SH, et al. (11)C-acetate as a new biomarker for PET/CT in patients with multiple myeloma: initial staging and postinduction response assessment. European journal of nuclear medicine and molecular imaging. 2014.

32 M.S. Lin, et.al., Kinetics of Amino Acid Transport Across Bone Marrow Cell Membranes, Donner Laboratory, University of California, Berkeley, 1970.

33 C. P. Burns, Isoleucine Metabolism by Leukemic and Normal Human Leukocytes in Relation to Cell Maturity and Type, Blood, 1974.

34 M. Cusson, et.al., Rate of Isoleucine Metabolism in Lepidopteran Corpora Allata: Regulation of the Proportion of Juvenile Hormone Homologues Released, Biochemistry Molecular Biology, 1996.

35 Max S. Lin, et.al., Kinetics of Amino Acid Transport Across Bone Marrow Cell Membranes, Donner Laboratory, University of California, 1970.

36 Jean-Damien Ch., et al., Synthesis of (2S,4S)- and (2S,4R)-5-fluoroleucine and (2S,4S)-[5,5-2H₂]-5-fluoroleucine, Sussex Centre for Biomolecular Design and Drug Discovery, Department of Chemistry, University of Sussex, Falmer, Brighton, UK. – 2014.

37 Bennett B. Chin, et al., Synthesis and Preliminary Evaluation of 5-[¹⁸F]fluoroleucine, Duke University Medical Center, Department of Radiology, Division of Nuclear Medicine, DUMC; Box 3949, Durham, USA. – 2017.

38 МУ 2.6.1.3151-13 Оценка и учет эффективных доз у пациентов при проведении радионуклидных диагностических исследований. – взамен МУ 2.6.1.1798-03 ; введ. 20.12.2013. – Москва : Роспотребнадзор, 2013.

39 S.Krebs, M.Dunphy, Clinical Indications for Hepatobiliary Scintigraphy, in Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas, 2017

40 H.A. Ziessman, MD, Radiopharmaceuticals In Nuclear Medicine (Fourth Edition), The Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland, 2014


41 R. Perham,et.al., Light Chains of Mouse Myeloma Proteins: Partial Amino Acid Sequence, Published by: American Association for the Advancement of Science, 1996

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования

«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Базовая кафедра медико-биологических систем и комплексов

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой


подпись
Шуваев А.Н.
инициалы, фамилия
« 18 » июня 20 18 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

**КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ L-[¹⁸F]-ИЗОЛЕЙЦИНА В
КАЧЕСТВЕ ПЭТ РФП ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МИЕЛОМНОЙ БОЛЕЗНИ**

03.04.02 Физика

**03.04.02.09 Технологическое сопровождение ядерной медицины и
медицинского оборудования**

Научный руководитель  подпись, дата доцент, канд. физ.-мат. наук А.Н. Шуваев

Выпускник  подпись, дата Е.С. Лысенкова

Рецензент  подпись, дата доцент, канд. хим. наук А.А. Шубин

Красноярск 2018